

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 02-257875

(43)Date of publication of application : 18.10.1990

(51)Int.Cl.

C12N 1/20  
A23K 3/02  
// (C12N 1/20  
C12R 1:225 )

(21)Application number : 01-080446

(71)Applicant : KUBOTA LTD

(22)Date of filing : 30.03.1989

(72)Inventor : YANO NAOTATSU  
NAKAMURA ICHIRO  
OHASHI MASAYUKI

## (54) NEW LACTOBACILLUS

(57)Abstract:

PURPOSE: To enable sure promotion of lactic acid fermentation of silage raw material by using Lactobacillus KB-292 strain having silage-preparation capability in both aerobic and anaerobic atmosphere.

CONSTITUTION: The objective Lactobacillus KB-292 strain (FERM P-10475) belonging to genus Lactobacillus has the following properties. Form, bacillus brevis; Physiological properties; lactic acid fermentation, homo-type; catalase, none; optimum growth temperature, 30-35° C; g growth temperature, 15-40° C; sugar assimilation properties, positive to glucose, galactose, etc. The lactobacillus of the strain vigorously promotes the lactic acid fermentation in aerobic atmosphere as well as in anaerobic atmosphere, especially at the initial stage of the culture, compared with the conventional lactobacillus. Accordingly, inoculation of the strain to a silage raw material enables the proliferation of lactic bacteria even in the initial stage of storage having aerobic atmosphere of the raw material to provide a silage having high nutrient value and liked by domestic animals. It can be applied even to rice straw, etc., in Addition to pasture grass.

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C): 1998,2003 Japan Patent Office

⑭ 日本国特許庁(JP)

⑮ 特許出願公開

⑯ 公開特許公報(A) 平2-257875

⑰ Int. Cl.<sup>5</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑱ 公開 平成2年(1990)10月18日

C 12 N 1/20  
A 23 K 3/02  
//C 12 N 1/20  
C 12 R 1:225)

E 8515-4B  
6754-2B

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全5頁)

⑲ 発明の名称 新規な乳酸菌

⑳ 特 願 平1-80446

㉑ 出 願 平1(1989)3月30日

㉒ 発 明 者 矢 野 直 彦 兵庫県尼崎市浜1丁目1番1号 久保田鉄工株式会社技術  
開発研究所内

㉓ 発 明 者 中 村 一 郎 兵庫県尼崎市浜1丁目1番1号 久保田鉄工株式会社技術  
開発研究所内

㉔ 発 明 者 大 橋 正 行 兵庫県尼崎市浜1丁目1番1号 久保田鉄工株式会社技術  
開発研究所内

㉕ 出 願 人 久保田鉄工株式会社 大阪府大阪市浪速区敷津東1丁目2番47号

㉖ 代 理 人 弁理士 北 村 修

明 細 書

1 発明の名称

新規な乳酸菌

2 特許請求の範囲

ラクトバチルス属に属する乳酸菌であって、  
好気性及び嫌気性のいずれの雰囲気でもサイレ  
ージ調製能力を有するラクトバチルスKB-292菌  
株(微工研菌寄第10475号)であることを特徴  
とする新規な乳酸菌。

3 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明はラクトバチルス属に属する新規な乳  
酸菌に関する。

(従来技術)

家畜の飼料となるサイレージは、牧草などを  
刈り取りサイロに保存することにより嫌気性発  
酵して製造される。

(発明が解決しようとする課題)

しかし、牧草などのサイレージ原料を刈り取  
った直後は、これらが空気にさらされているた

め好気性雰囲気となっており、所定の嫌気性発  
酵を起こすことができない。したがって、家畜  
の飼料に供するには、刈り取られた原料自体の  
呼吸が進み、積み上げられた原料間の酸素が十  
分に消費されて嫌気性雰囲気に達しなければなら  
ず、嫌気性発酵が進行するまで少なからぬ時  
間を要していた。このような場合、サイレージ  
原料が嫌気性雰囲気に達するまでに好気性菌が  
増殖する場合があります、原料に微生物による障害  
が生じることがある。

また、嫌気性雰囲気に達しても、家畜の好ま  
ない臭いを発する酪酸菌などが乳酸菌に替わっ  
て先に増殖することがあり、常に良好な嫌気性  
発酵を実現することができるわけではなかった。

そこで、本発明は、上記従来技術の有する  
問題点を解消し、牧草などのサイレージ原料に  
対して刈り取り直後から、栄養価が高く家畜の  
好む乳酸発酵を確実に促進させる新規な乳酸菌  
を提供することを目的とする。

(課題を解決するための手段)

特開平2-257875 (2)

上記目的を達成するため、本発明にかかる新規な乳酸菌の特徴構成は、ラクトバチルス属に属するものであって、好気性及び嫌気性のいずれの雰囲気でもサイレージ調製能力を有するラクトバチルスKB-292菌株（微工研菌寄第10475号）である点にある。

〔作用・効果〕

本発明者らは、サイレージ原料の保存初期から乳酸発酵を促進する乳酸菌を発掘すべく多大の努力を重ねた結果、従来の乳酸菌に比べて好気性雰囲気においても、また嫌気性雰囲気においても、とくに保存初期において十分なサイレージ調製能力を有する菌を見出すことに成功した。

本発明にかかる乳酸菌、ラクトバチルスKB-292菌株は、下記の性質を有する。

培地	LCM培地
	pH: 6.8, 37℃, 24時間の培養で良好な生育を示す。
形態	短桿菌

メリビオース	+	+
ラフィノース	+	-
メレチトース	+	+
イヌリン	-	-
スターチ	+	+
キシロース	-	-
シアラビノース	+	-
リボース	+	+
ラムノース	-	-
エタノール	-	-
グリセロール	-	-
エリスリトール	-	-
ガラクトール	-	-
マンニトール	+	+
α-Me-グルコシド	-	-
サリシン	+	+
クエン酸	-	-
イノシトール	-	-
マンノース	+	+

なお、上記糖の資化性については、下記組成

胞子	なし
グラム染色	陽性
生理学的性質	乳酸発酵
カタラーゼ	なし
生育温度	30-35℃
生育温度	15-40℃

糖の資化性

（これについては、ラクトバチルス・プランタルム標準菌と比較した結果を示す）

ラクトバチルス・

	本菌株	プランタルム標準菌
グルコース	+	+
ガラクトース	+	+
ソルボース	-	-
サッカロース	+	+
マルトース	+	+
セロビオース	+	+
トレハロース	+	-
ラクトース	+	+

の基本培地にB T Bを加え、121℃、20分間滅菌して、冷却後に各糖類を2%となるように加え、その後、乳酸菌の懸濁液を一滴づつ接種し30℃下で培養して調べた。そして、培養7日後に増殖の結果、培地の色が緑色から黄色に変わったものについて資化性があると判断したものである。

基本培地	ポリペプトン	0.5%
	酵母エキス	0.5%
	リン酸二カリ	0.5%

以上の結果より、本発明の乳酸菌はラクトバチルス属に属することが明かであり、ラクトバチルス・プランタルムの類菌種であると認められる。しかしながら、ラクトバチルス・プランタルムとは、トレハロース、ラフィノース、シアラビノースの各糖類において資化性を有すること、更には後述するように、培養初期において好気性、嫌気性のいずれの雰囲気においても乳酸生成量が多いこと及びこれに付随するpH値の低下が著しいことにおいて顕著な相違点

が存する。このような事実を勘案すると、本菌株はラクトバチルス属に属する新規な乳酸菌とすることが妥当であると認め、ラクトバチルス KB-292 菌株と命名した。

なお、本菌株ラクトバチルス KB-292 は、微工研菌寄第 10475 号として工業技術院微生物工業技術研究所において寄託されている。

#### 【実施例】

つぎに、本菌株の具体的乳酸生成能力を実験結果を基に説明する。

第 1 図 (a), (b), (c) は、ラクトバチルス・ブランチウム標準菌と本菌株とを夫々 20, 30, 37℃ の各培養温度において 96 時間まで培養したときの pH の変化を示す。

このときの測定は、0.5% ポリペプトン、0.5% 酵母エキス、0.5% リン酸二カリからなる基本培地に、グルコースを 2.0% 添加し、しかる後菌株を接種して、経時的に行った。

同図から、とくに培養初期において、本菌株の方がより pH の低下をもたらすことが理解さ

れる。この傾向は、培養温度が高いほど一層顕著な結果となっている。

ついで、乳酸生成量を上記 pH の測定と同様な条件で測定し、その結果を第 2 図 (a), (b), (c) に示す。このときの、乳酸生成量の測定は次式に基づいて滴定法により行った。

$$\text{乳酸量 (X)} = N/10 \text{NaOH 滴定数} \times f \times 0.009 \\ \times 100 / \text{サンプル量}$$

ここに、N/10NaOH 滴定数は 1/10 規定の NaOH 滴定数を意味し、f は滴定する際の補正ファクターであり、0.009 は NaOH 溶液 1cc 当りの乳酸相当量である。

同図の結果についても、第 1 図の結果とほぼ同様な傾向が窺える。

さらに、雰囲気の影響をラクトバチルス・ブランチウム標準菌と本菌株について調べた。

第 3 図 (a), (b) に好気性雰囲気および嫌気性雰囲気についての培養時間の経過に伴う pH 変化の測定結果を示す。

培地は前記したものと同様のものを用い、30

℃下で静置培養してこれを好気性雰囲気とし、他方、BBJ 社製嫌気ジャー中で培養することによりこれを嫌気性雰囲気とした。

本菌株は、好気性、嫌気性のいずれの場合においても、培養初期の 24 時間で急激な pH の低下が認められる。

同様な条件について乳酸生成量を測定したが、その結果を第 4 図 (a), (b) に示す。

この場合も、培養初期の 24 時間で急激な乳酸生成量がみられ、第 3 図 (a), (b) に示した pH の低下傾向と対応する結果が得られた。

以上の結果から、本菌株の乳酸菌は、従来の乳酸菌に比べて好気性雰囲気においても、また嫌気性雰囲気のいずれにおいても、とくに培養初期において乳酸発酵を活発に促進することが明かである。したがって、本菌株をサイレージ原料に接種することにより、原料雰囲気が好気性である保存初期においても、速やかに pH を低下させ乳酸菌を増殖させて、栄養価が高く家畜の好むサイレージを提供することができるの

であり、本菌株は十分にサイレージ調整能力を有するものである。

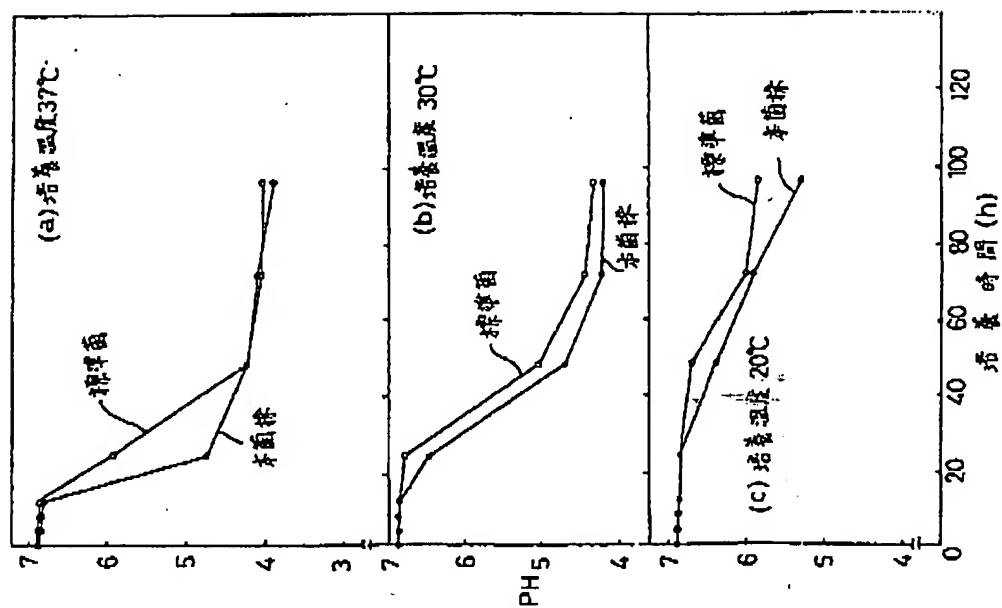
本菌株は、幅広いサイレージ原料に対して適応性のあるものであり、各種の牧草の他、稲わら、麦わらなどの農産廃棄物にも利用可能である。

#### 4 図面の簡単な説明

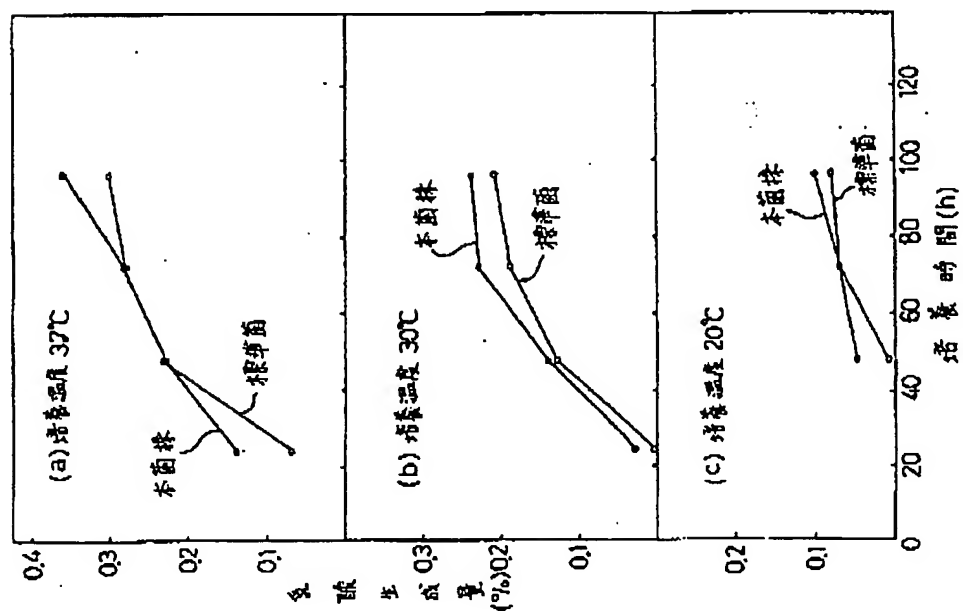
第 1 図 (a), (b), (c) はラクトバチルス・ブランチウム標準菌と本菌株との異なる培養温度における pH の経時変化を示す図、第 2 図 (a), (b), (c) は同じく乳酸生成量の経時変化を示す図、第 3 図 (a), (b) は異なる雰囲気における pH の経時変化を示す図、第 4 図 (a), (b) は同じく乳酸生成量の経時変化を示す図である。

代理人 弁理士 北 村 修

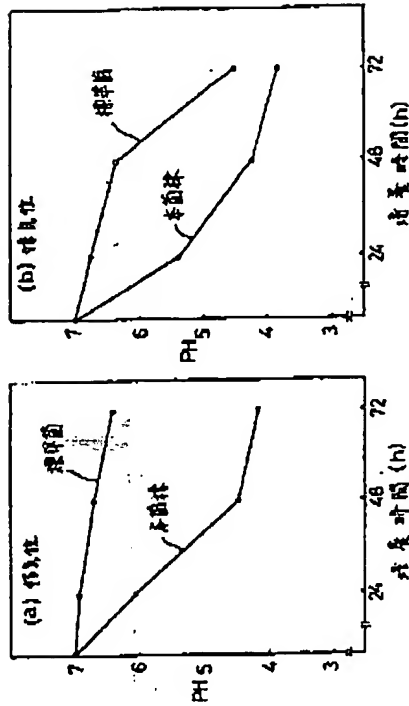
第 1 圖



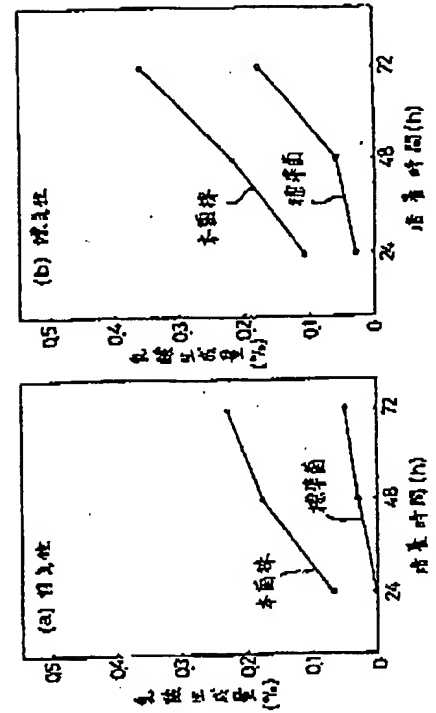
第 2 圖



第3図



第4図



手続補正書 (方式)

平成元年7月/日

特許庁長官 殿

1. 事件の表示

平成1年 特 許 願 第80446号

2. 発明の名称

新規な乳酸菌

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住 所 大阪府大阪市浪速区難波東1丁目2番47号

名 称 (105) 久保田鉄工株式会社

4. 代 理 人

住 所 大阪府大阪市北区豊崎5丁目8番1号  
北村特許ビル

電話 大阪 (06) 374-1221(代)

氏 名 (8097) 弁理士 北 村 修

5. 補正命令の日付

平成1年7月4日(発送日)

6. 補正の対象

明細書の「図面の簡単な説明」の欄

方式

7. 補正の内容

明細書中、第10頁8行~14行の「第1図(a), (b), (c) は~を示す図である。」を次文の通り訂正する。

「第1図はラクトバチルス・ブランチウム標準菌と本菌株との異なる培養温度におけるpHの経時変化を示す図、第2図は同じく乳酸生成量の経時変化を示す図、第3図は異なる雰囲気におけるpHの経時変化を示す図、第4図は同じく乳酸生成量の経時変化を示す図である。」

代理人 弁理士 北 村 修

